DOI: 10.22092/spj.2023.359804.1269

"مجله نهال و بذر"
جلد ۳۸، شماره ۲، سال ۱۴۰۱

مقاله پژوهشی

سازکارهای آنزیمی ضداکسایشی در برخی پایه‌های بذری و همگروه تجاری گلابی در واکنش به تنش کسر آبیاری

Enzymatic Anti-oxidative Mechanisms in Some Seedling and Clonal Commercial Pear Rootstocks in Response to Deficit Irrigation Stress

مجید ظهوری[۱] و حمید عبداللهی[۲*]

۱- پژوهشگر، پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.
۲- دانشیار، پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۲۵

چکیده

ظهوری، م. و عبداللهی، ح. ۱۴۰۱. سازکارهای آنزیمی ضداکسایشی در برخی پایه‌های بذری و همگروه تجاری گلابی در واکنش به تنش کسر آبیاری. **مجله نهال و بذر ۳۸:** ۲۲۲-۲۰۵.

تحمل به تنش کسرآبیاری و سازکارهای مرتبط با آن از خصوصیات مهم در پایه‌های بذری و همگروه گلابی می باشد که تعیین کننده میزان موفقیت استفاده از این پایه ها در سطح تجاری است. بر این اساس، در پژوهش حاضر به موازات بررسی تحمل پایه‌های بذری درگزی و *Pyrus betulifolia* Bunge و پایه‌های همگروه پیرودوارف، OH×F69 و OH×F87 به تنش کسر آبیاری، برخی از سازکارهای آنزیمی ضداکسایشی آنها در واکنش به این تنش در شرایط گلخانه ای در سال ۱۳۹۷ در گلخانه پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی درکرج بررسی و مقایسه شد. تنش کسر آبیاری در سه سطح بدون تنش، تنش ملایم و نسبتاً شدید به صورت آبیاری در ۱۰۰، ۷۵ و ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه در شرایط گلخانه‌ای طی ۶۰ روز اعمال شد. ارتفاع پایه، تولید گونه فعال اکسیژن پراکسیدهیدروژن (H_2O_2) و در پی آن نشت یونی و فعالیت سه آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (POX) در دو مرحله ۳۰ و ۶۰ روز از آغاز تنش، در پایه‌ها اندازه گیری و بررسی شد. نتایج بیانگر تحمل بیشتر پایه پیرودوارف به تنش کسر آبیاری حتی در شرایط تنش ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه در مقایسه با دیگر پایه‌ها بود. تولید پراکسیدهیدروژن در بافت تازه بین۲۳/۷ میکرومول در گرم در پایه OH×F87 تا ۳۲/۵ میکرومول در گرم در پایه *P. betulifolia* Bunge متفاوت بود. با افزایش شدت و مدت تنش، تولید پراکسید هیدروژن در بافت تازه به مقادیر حداکثری ۸۱/۳ میکرومول در گرم افزایش یافت که با نشت یونی همبستگی معنی‌دار ($r = ۰/۷۳۴^{**}$) در سطح احتمال یک درصد داشت. همچنین ضرایب همبستگی حاصل، موید ترتیب افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و سپس کاتالاز در پاسخ به افزایش شدت تنش کسر آبیاری در پایه‌ها بود. بر اساس نتایج این پژوهش، بخشی از سازکار تحمل به تنش کسر آبیاری در پایه‌های گلابی از طریق تبدیل سوپراکسید به پراکسیدهیدروژن و سپس جلوگیری از تجمع آن می باشد.

واژه های کلیدی: گلابی، تنش اکسایشی، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، پراکسید هیدروژن.

* نگارنده مسئول: h.abdollahi@areeo.ac.ir تلفن: ۰۲۶۳۶۷۰۲۵۴۱

مقدمه

درخت گلابی از نظر اهمیت پس از سیب مهمترین درخت میوه‌دانه‌دار است (FAO, 2019) و در مقایسه با دیگر درختان میوه دانه‌دار به‌ویژه درخت سیب و همچنین سایر درختان میوه هسته‌دار نظیر درختان گیلاس، آلو و زردآلو، هلو و شلیل، تحمل بیشتری نسبت به تنش خشکی و کسر آبیاری دارد (Lombard and Westwood, 1987). از سوی دیگر تحمل به خشکی تا حد زیادی به پتانسیل ژنتیکی پایه مورد استفاده بستگی دارد و تفاوت قابل توجهی بین گونه‌های مختلف جنس *Pyrus*، در تحمل به این تنش گزارش شده است (Bell, 1991).

همچنین در بین گونه‌های مختلف جنس گلابی، سازگاری بالائی از نظر پیوند مشاهده شده است و بر خلاف درخت سیب، تقریباً کلیه ارقام گلابی، با پیوند روی گونه‌های جنس *Pyrus* قابلیت تبدیل شدن به درخت کامل و بارور را دارا می‌باشند. در این بین نکته کلیدی، پتانسیل تجاری و کاربرد گونه گلابی به عنوان پایه است که در این مورد تفاوت قابل توجهی بین گونه‌های جنس *Pyrus* مشاهده شده است (Abdollahi, 2010).

مهمترین گونه‌های جنس *Pyrus* که تاکنون به عنوان پایه برای ارقام تجاری گلابی مورد استفاده قرار گرفته‌اند شامل گونه‌های *P. communis* L.، *P. betulifolia*، *P. calleryana* می باشند و البته سایر گونه‌ها نیز به طور محدود در برخی کشورها برای تولید نهال گلابی مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Westwood, 1993). از این جمله گونه *P. pashia* D. Don. در هند و جنوب غربی چین، *P. amygdaliformis* Vill. در یوگسلاوی سابق، ترکیه و یونان، *P. kawakamii* Hayata در تایوان، *P. ussuriensis* Maxim. در شمال شرقی چین، *P. syriaca* Boiss. در سوریه و لبنان و *P. longipes* Coss. & Dur. در الجزایر و مراکش قابل ذکر هستند. بر اساس گزارش بل Bell (1991)، گونه گلابی *P. betulifolia* از جمله متحمل‌ترین گونه‌های جنس گلابی برای تحمل به خشکی بوده و سایر گونه‌ها نظیر *P. amygdaliformis* و *P. syriaca* نیز تحمل بالائی به تنش خشکی دارند.

بررسی‌های میدانی نشان داده است که علی‌رغم تحمل بالای گونه‌های *P. amygdaliformis* و *P. syriaca* به تنش خشکی، ظاهراً این گونه‌ها پتانسیل بالائی برای کاربرد تجاری به عنوان پایه ندارند، و استفاده از بذر آنها برای تولید نهال بذری در نهالستان‌های کشور چندان مورد استقبال قرار نگرفته است (Abdollahi, 2010). این در حالی است که گونه‌های *P. betulifolia* و *P. calleryana* از پتانسیل بالاتری نسبت به دو گونه ذکر شده برای کاربرد تجاری به عنوان پایه برخوردار هستند و تحمل به خشکی بالائی نیز در گونه *P. betulifolia* گزارش شده است.

ارزیابی تاثیر کاربرد گونه‌های مختلف گلابی روی تحمل به خشکی و در عین حال کیفیت میوه، نشان داده است که پایه *P. betulifolia* در ترکیب پیوندی با رقم گلابی ژاپنی نیجیسیکی (Nijisseiki) دارای تحمل مطلوب به خشکی بوده است و این ویژگی از میزان بالای مواد اسمزی در سلول‌های بافت‌های آن ناشی می‌شود (Tamura, 2012). در بررسی دیگری روی سازکار مقاومت به خشکی در گلابی، حساسیت کمتر به اسید آبسیزیک تولید شده در برگ، به عنوان سازکار مهم در تحمل به خشکی در ژنوتیپ متحمل‌تر گزارش شده است (Wang *et al*., 2018). لی و همکارن (Li *et al*., 2016) بیان کردندکه علاوه بر تاثیر اسید آبسیزیک در تحمل به خشکی در گلابی، اسید جیبرلیک نیز به عنوان یک هورمون گیاهی در سازکارهای تحمل به خشکی این گونه تاثیرگذار است.

علاوه بر تاثیر هورمون‌های گیاهی در تحمل به خشکی گلابی، تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و آنزیم های ضداکسایشی در گیاه در مقابل آنها از سازکارهای بسیار مهم و موثر در تحمل به تنش خشکی در گیاهان است (Henzler and Steudle, 2004). از سوی دیگر، فعالیت بالاتر و بیشتر آنزیم‌های ضداکسایشی بافت‌های گیاهی، سبب تحمل بیشتر و موثرتر آنها به تنش‌های غیرزنده از جمله تنش خشکی می شود (Alscher *et al*., 2002). به این دلیل که تنش‌های غیرزنده، از طریق بازدارندگی فرآیند انتقال الکترون، سبب تولید گونه‌های مختلف اکسیژن فعال شد. فعالیت‌های آنزیمی ضداکسایشی از جمله سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز و پراکسیدازها، در کنار برخی ساختارهای ضداکسایشی غیرآنزیمی نظیر فنل‌ها، توکوفرول و کاروتنوئیدها سبب تعدیل و کاهش اثرات مخرب تنش غیرزنده روی بافت‌ها در اثر میزان بالای گونه‌های اکسیژن فعال خواهد شد (Henzler and Steudle, 2004; Alscher *et al*., 2002).

برخی پژوهشگران نشان داده اند که تولید گونه‌های فعال اکسیژن و همچنین آنزیم های ضد اکسایشی مرتبط با آنها در تحمل به تنش‌های زنده در گلابی به ویژه بیماری آتشک نقش موثر و تعیین کننده‌ای داشت (Hassani *et al*., 2016; Azarabadi *et al*., 2017). بر خلاف تحقیقات انجام گرفته در رابطه با تنش‌های زنده در درخت گلابی، یافته‌های محدودی در رابطه با نقش گونه‌های فعال اکسیژن و همچنین سازکارهای ضد اکسایشی مرتبط با آنها در تحمل به تنش‌های غیر زنده با تاکید بر تنش خشکی در این گونه وجود دارد. بنابراین، با توجه به وجود طیف گسترده‌ای از پایه‌های رویشی در کشور و همچنین امکان مقایسه آنها با گونه متحمل به خشکی *P. betulifolia* Bunge لازم است پژوهش هایی در این زمینه انجام شود.

هدف این پژوهش مقایسه تحمل به تنش کسر آبیاری برخی پایه های بذری و رویشی گلابی در

شرایط گلخانه، ارزیابی تولید پراکسیدهیدروژن به عنوان مهم‌ترین و موثرترین گونه فعال اکسیژن تولیدی در گیاه در واکنش به تنش خشکی، و همچنین مقایسه فعالیت و تاثیر سه آنزیم ضداکسایشی مرتبط شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (POX) در این شرایط بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و تکثیر

پایه‌های مورد استفاده در این پژوهش شش پایه گلابی شامل: پایه بذری درگزی از گونه *P. communis* L. و پایه بذری *P. betulifolia* Bunge. در کنار سه پایه رویشی Daynir، OH×F69، OH×F87 Daytor و پیرودوارف (Pyrodwarf) بودند.

به منظور اجتناب از تداخل عادت رشد انواع پایه بذری و پایه‌های همگروه و همچنین پرهیز از تنوع ژنتیکی در تکرارهای مختلف پایه‌های بذری، در رابطه با دو پایه بذری درگزی و *P. betulifolia* یک پایه انتخاب و به صورت رویشی و با استفاده از روش تکثیر درون شیشه ارائه شده توسط عبداللهی و همکاران (Abdollahi *et al*., 2005) برای پایه درگزی و منصوریار و همکاران (Mansuryar *et al*., 2016) برای پایه *P. betulifolia* در سال ۱۳۹۷ ازدیاد همگروه شدند

پایه‌های رویشی نیمه‌پاکوتاه‌کننده OH×F69 Daynir با نام تجاری معادل Farold® 69، OH×F87 Daytor و پیرودوارف عاری از ویروس از پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری موسسه تحقیقات علوم باغبانی تهیه و با روش عبداللهی و همکاران (Abdollahi *et al*., 2005) ازدیاد همگروه شدند.

بررسی‌ها در سال ۱۳۹۷ درگلخانه پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری موسسه تحقیقات علوم باغبانی در کرج انجام شد.

اعمال تنش کسر آبیاری

به منظور اعمال سطوح کسر آبیاری، پایه‌های ازدیاد شده با ارتفاع تقریبی ۴۰ تا ۵۰ سانتی‌متر و با قطر حدود یک سانتی‌متر در گلدان‌های ۱۰ کیلوگرمی با ترکیب مساوی خاک، ماسه و کوددامی پوسیده از اواسط تیر سال ۱۳۹۷ کاشت و استقرار یافتند. در هر گلدان سه گیاه از هر پایه بود و هر تیمار آزمایشی در سه تکرار انجام شد. میانگین دمای روزانه گلخانه محل استقرار پایه‌ها ۳±۲۸ درجه سانتی‌گراد و طول دوره نوری در مرداد و شهریور و بدون استفاده از نور تکمیلی در نظر گرفته شد.

پس از استقرار پایه‌ها در خاک گلدان ها، در تیر سال ۱۳۹۷، اعمال سطوح تنش کسر آبیاری: ۵۰ درصد (تنش نسبتاً شدید) و ۷۵ درصد (تنش ملایم) ظرفیت مزرعه (Field capacity = FC) در کنار شاهد بدون تنش رطوبتی (آبیاری ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه) انجام شد. به منظور اعمال تیمارهای کسر آبیاری، از روش وزنی استفاده شد. پس از توزین گلدان‌ها در شرایط آبیاری کامل (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه) و خروج آب

اضافی، روزانه گلدان‌ها توزین و میزان آب لازم در تیمارهـای کسـر آبیـاری پـس از رسـیدن بـه ظرفیت مزرعه مورد نظر، اضافه شد.

ارزیابی‌های شامل ارزیابی شاخص‌های رشد و صـفات فیزیولوژیـک بـر روی پایـه‌هـای در شرایط تنش در طی بازه زمانی ۶۰ روزه پـس از آغـاز تـنش کسـر آبیـاری بـود. بـه ایـن منظـور، شاخص رشـد بـه صـورت انـدازه‌گیـری ارتفـاع پایه‌ها در دوره‌هـای زمـانی صـفر (مرحلـه آغـاز تنش) و سپس ۳۰ و ۶۰ روز مورد ارزیـابی قـرار گرفت. صفات فیزیولوژیک مورد بررسی شامل: میزان نشت یونی غشاء سلولی پایه‌هـا بودکـه در دوره‌های زمانی ۳۰ و ۶۰ روز پس از آغاز تنش، در نمونه‌های برگی کلیه پایـه‌هـا و کلیـه سـطوح آبیاری در تکرارهای مختلف مورد ارزیابی قرار گرفتنـد. بـرای نمونـه‌بـرداری برگـی، تعـداد ۲۰ بـرگ در دوره مـذکور از بخـش‌هـای مختلـف شاخه‌ها به غیر از برگ‌های بسیار جوان و توسعه نیافتـه نمونـه‌بـرداری شـد و بلافاصـله جهـت نگهداری در دمـای ۶۴- درجـه سـانتی‌گـراد تـا زمان انجام ارزیابی‌ها نگهداری شدند. ارزیابی‌ها در یک دوره زمـانی سـه ماهـه از نمونـه‌بـرداری انجام شد.

صفات فیزیولوژیک

میزان نشت یونی بر اساس هدایت الکتریکی (Electrical conductivity = EC) توسـط دسـتگاه EC متـر (Walk Lab مـدل Trans Instruments) انـدازه گیـری شـد. نمونـه‌هـای منجمد به مقدار ۰/۲ گرم در پنج میلی‌لیتـر تـری اسیدکلرواسـتیک یـک درصـد عصـاره‌گیـری شدند. عصـاره حاصـل بـه مـدت پـنج دقیقـه در ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و سـپس بـه یـک میلی‌لیتر از سوسپانسـیون صـاف شـده هـر نمونـه پنج میلی لیتر اسید تری‌کلرو استیک ۲۰ درصـد که حاوی ۰/۵ درصد اسید تیوباربیتوریک بـود، اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت.

پس از ۳۰ دقیقه لوله ها از حمام خارج شد و پس از سرد شـدن دوبـاره مخلـوط بـه مـدت ۱۰ دقیقـه در ۵۰۰۰ دور در دقیقـه سـانتریفوژ شـد. غلظت مالون دی آلدئیـد بـا انـدازه‌گیری میـزان جـذب در طـول مـوج ۵۳۲ خوانـده شـد. برای محاسبه غلظت مالون دی آلدئید از ضریب خاموشی معادل استفاده شـــد و نتایج حاصل از اندازه‌گیری بر حسب نـانومول برگرم وزن تر بـا استفاده از معادله زیرمحاسبه شد:

غلظت مالون دی آلدئید = (A532-A600)/C×۱۰۰۰

در ایـــن رابطـــه ضـــریب خاموشـــی (C)، ۱۵۵ $mM^{-1}cm^{-1}$ در نظر گرفته شد.

غلظت پراکسید هیدروژن بر اسـاس واکـنش آب اکسـیژنه H_2O_2 بـا یدیـد پتاسـیم (KI) وبـا روش آلکسـیوا و همکـاران (Alexieva *et al*., 2001) اندازه گیری شد. در این روش ۰/۱ گرم از بافت تازه گیاه در اسید تری‌کلرواستیک یک درصد سائیده شد. عصاره حاصـل بـه مـدت ۱۵ دقیقـه در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقـه سـانتریفوژ شـد. سـپس بـه ۵۰۰ میکرولیتـر ازمحلـول رویـی ۵۰۰ میکرولیتر بافر پتاسـیم فسـفات ۱۰۰ میلـی مـولار

(pH = 7) و دو میلی‌لیتر یدید پتاسیم یک مولار اضافه گردید. مخلوط حاصل پس از یک ساعت نگهداری در تاریکی و جذب نمونه‌ها در ۳۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای محاسبه غلظت پراکسید هیدروژن از منحنی استاندارد استفاده شد. برای رسم منحنی استاندارد غلظت های ۲۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۰۰، ۱۰۰ میکرومولار پراکسید هیدروژن تهیه ومنحنی جذب بر حسب غلظت رسم ومعادله آن به دست آمد.

فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایش

آنزیم‌های مورد بررسی شامل سه آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (POX) بودند. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به روش اسپکتروفتومتری و بر اساس قابلیت بازدارندگی آن در احیای فتوشیمیایی نیتروبلوتترازولیوم در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Beauchamp and Fridovich, 1971). فعالیت آنزیم کاتالاز به روش اسپکتروفتومتری ارائه شده توسط آیبی (Aebi, 1984) و بر اساس میزان ناپدید شدن آب اکسیژنه (H_2O_2)، در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش اسپکتروفتومتری ارائه شده توسط هرزاگ و فهیمی (Herzog and Fahimi, 1973) مورد ارزیابی قرار گرفت. در این روش نیز پس از تهیه عصاره، ثبت تغییرات جذب نور نمونه‌ها در طول موج ۴۶۵ نانومتر که بیانگر میزان تخریب و کاهش غلظت آب اکسیژنه (H_2O_2) است، هر ۱۰ ثانیه و به مدت ۱۲۰ ثانیه انجام شد.

فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز به روش اسپکتروفتومتری ارائه شده توسط ناکانو و آسادا (Nakano and Asada, 1981) اندازه‌گیری شد. اساس این روش، بر کاهش جذب نور در طول موج ۲۹۰ نانومتر استوار است که ناشی از اکسیده شدن آسکوربات در طی فرآیند ارزیابی می‌باشد. در این روش، ثبت تغییرات جذب نور نمونه در طول موج ۲۹۰ نانومتر که بیانگر میزان اکسیداسیون و کاهش غلظت آسکوربات است، هر ۱۰ ثانیه و به مدت ۱۲۰ ثانیه انجام شد.

طرح آزمایشی و تجزیه و تحلیل‌های آماری

در این پژوهش از آزمایش فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار استفاده شد. تعداد پنج گلدان یکنواخت در هر کرت آزمایش وجود داشت. عوامل مورد بررسی شامل دو عامل: انواع مختلف پایه در پنج سطح و کسر آبیاری در سه سطح بود. نمونه برداری‌ها در دو دوره ۳۰ و ۶۰ روزه پس از اعمال تنش کسر آبیاری انجام شد. داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم افزار اکسل (Microsoft-Excel Version 2013) گرد آوری و تنظیم و تدوین شد. سپس تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم افزار سیگماپلات (SigmaPlot, Sigma, Version 12.5) انجام و نموارها با استفاده از نرم افزار اکسل ترسیم گردید.

نتایج و بحث

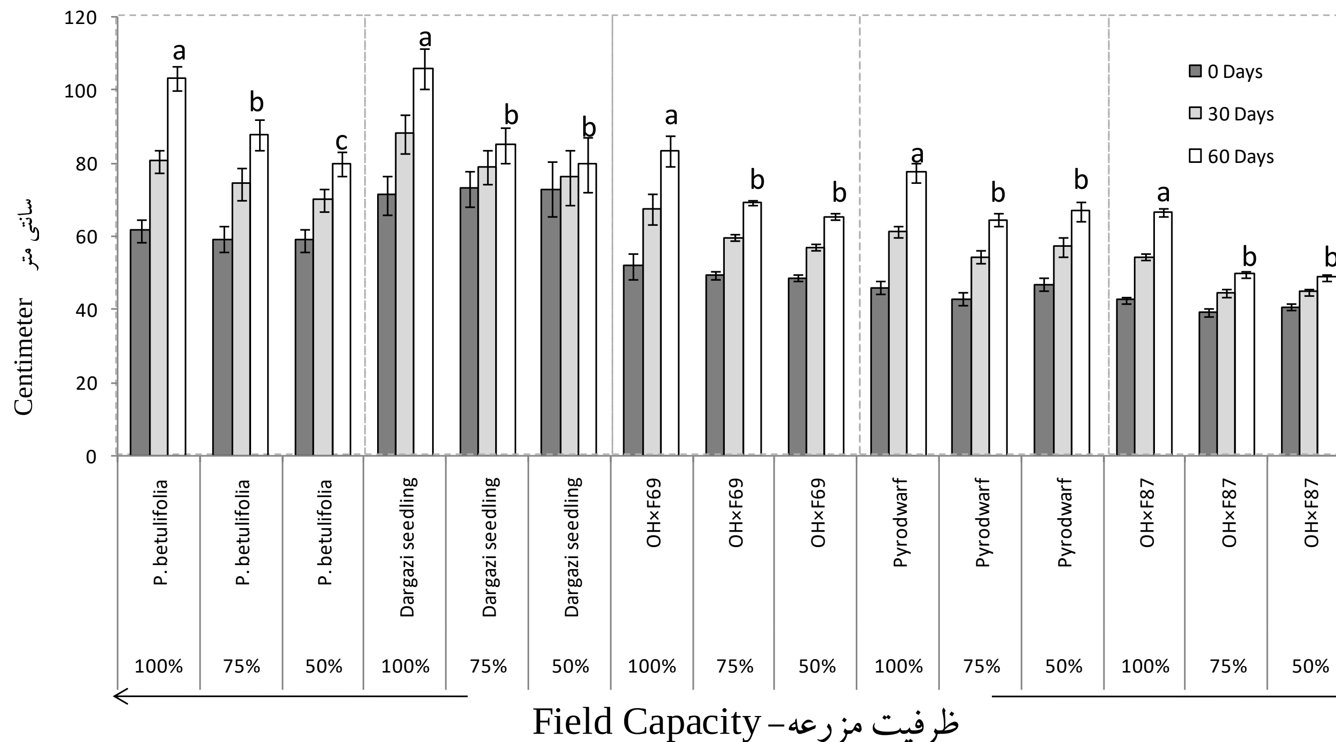
رشد و باردهی

نتـایج بـه دسـت آمـده نشـان داد تـنش کسـر آبیـاری بر کـاهش رشـد هـر پـنج نـوع پایـه مـورد اسـتفاده در ایـن پـژوهش اعـم از پایـه‌هـای بـا منشـاء بـذر شـامل پایـه درگـزی و پایه *P. betulifolia* Bunge در کنار سه پایـه رویشـی OH×F69، OH×F87 و پیـرودوارف تاثیر گذار بود (شکل ۱). تیمارهـای تـنش کسـر آبیـاری اعمـال شـده در سـطح ۷۵ درصـد و ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه به ترتیب به منظـور ایجـاد تـنش ملایـم و نسـبتاً شـدید کسـر آبیـاری بـود. ارتفـاع پایـه‌هـا در شـرایط بـدون تـنش دارای بلندترین ارتفـاع پـس از ۳۰ و ۶۰ روز بـود و بـا افزایش شدت تنش، ارتفاع پایه‌ها نسبت به شاهد بدون تنش، کوتاه تر بود.

مقایسه ارتفاع پایه‌های مورد بررسی نشان داد که پایـه‌هـای مـورد بررسـی در سـطح تـنش ۷۵ درصد ظرفیت مزرعـه نسـبت بـه شـاهد کـاهش معنی‌دار رشد را که بر اساس ارتفاع نهـائی نهـال ارزیـابی شـده بـود، نشـان دادنـد (شـکل ۱). از سوی دیگر، مقایسه ارتفاع نهائی پایه‌هـای مـورد بررسی در سطح تنش ۷۵ درصـد کسـر آبیـاری بـا سـطح تـنش ۵۰ درصـد ظرفیـت مزرعـه نشان دهنـده معنـی‌دار بـودن کـاهش رشـد تنهـا در پایـه *P. betulifolia* Bunge بـود، و در سـایر پایـه‌هـا بـین دو سـطح تـنش فـوق تفـاوت معنـی‌داری وجـود نداشـت. پایـه *P. betulifolia* Bunge از نظـر رشـد بسـیار سریع‌الرشد است و در گروه پایه‌های بسیار پابلند گلابی محسوب مـی‌شـود (Abdollahi, 2010). از سوی دیگر در گروه‌بندی بـل (Bell, 1991)، پایه *P. betulifolia* Bunge در گروه پایـه‌هـای بسـیار متحمـل بـه تـنش خشـکی طبقـه‌بنـدی شده است.

با توجه به اینکه پـژوهش حاضـر در شـرایط گلخانه‌ای انجام و امکان رشد عمیـق ریشـه‌هـای ایـن پایـه در گلـدان وجـود نداشـت و از سـوی دیگر با توجه به قدرت رشد بسیار زیاد این پایـه در خـاک‌هـای مختلـف، از جملـه خـاک‌هـای مناطق نیمه‌خشک ایـران، بـه نظـر مـی‌رسـد ایـن تحمل به خشکی می‌توانـد بیشـتر در اثـر قـدرت رشد عمقی و نفوذ ریشه به اعماق خاک باشد، و بخش کمتـری از آن بـه قـدرت جـذب آب در پتانسیل‌های پائین آب در خاک ناشی شده باشد. این نتایج بـا بررسـی قبلـی ظهـوری و همکـاران (Zohouri *et al*., 2020) منطبق است، زیرا آنها نیز بر اساس سرعت رشـد نسـبی و تعـداد بـرگ نتیجه مشابهی را در پایه *P. betulifolia* Bunge گزارش کردند.

پایـــه‌هـــای مـــورد بررســـی، بجـــز از پایـــه *P. betulifolia* Bunge، تفـاوت معنـی‌داری از نظر ارتفـاع پایـه‌هـا در دو سـطح تـنش ۷۵ و ۵۰ درصـد ظرفیـت مزرعـه کسـر آبیـاری نداشـتند (شکل ۱). لیکن مقایسه ارتفـاع نهـائی نشـان داد که در کلیه پایه‌ها، بجز پایه پیـرودوارف، میـزان رشـد نهـائی در سـطح تـنش ۵۰ درصـد کسـر آبیاری، نسبت به تـنش ۷۵ درصـد کاهش و تنهـا



شکل ۱- مقایسه ارتفاع پایه‌های گلابی بر اساس دوره‌های صفر (شروع آزمایش)، ۳۰ و ۶۰ روز بعد از اعمال تنش کسر آبیاری. تیمارهای کسر آبیاری در دو سطح ۷۵ و ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه اعمال و با شاهد بدون تنش خشکی (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه) مقایسه شد. حروف مشابه در بالای نمودارهای هر پایه بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار میزان ارتفاع پایه‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد می‌باشد. خطوط عمودی نمودار بیانگر میانگین‌ها ± خطای استاندارد است

Fig. 1. Comparison of the height of pear rootstocks at zero (beginning of experiment), 30 and 60 days after application of deficient irrigation treatments. Deficient irrigation treatments were applied at two levels; 75 and 50 percent of the field capacity and compared with non- deficient irrigation (100% of filed capacity irrigation) as control. Similar letters on the top of bars of each particular rootstock, show not significant differences at the 1% probability level- using Duncan’s Multiple Range Tests. The vertical lines on the bars show the means ± standard errors

در پایه پیرودوارف رشد کم و بیش یکسان بود. بررسی دیگر در رابطه با مقایسه تنش خشکی در پایه پیرودوارف با پایه بذری نشان داده است که در سطوح تنش ملایم، پایه پیرودوارف حتی نسبت به پایه‌های بذری درگزی تحمل بهتری نسبت به تنش خشکی داشت (Maleki Asayesh *et al*., 2022).

تجارب میدانی استفاده از پایه پیرودوارف در سطح تجاری در باغ‌های کشور نیز تایید کننده این است که پایه پیرودوارف حتی نسبت به پایه‌های بذری، از استقرار و رشد اولیه خوبی برخوردار است و این سبب رشد بهتر و سبزینگی بالاتر در ارقام پیوندی روی این پایه شده است. بخشی از این رشد مطلوب‌تر در رقم و استقرار باغ‌های اقتصادی‌تر ارقام گلابی روی پایه پیرودوارف می‌تواند ناشی از تحمل بهتر آن به تنش خشکی، شبکه ریشه‌ای گسترده (Abdollahi, 2010) و تحمل بالاتر آن به سطوح بالاتر آهک فعال در خاک در مقایسه با پایه بذری (Esmaili *et al*., 2019) باشد.

تنش اکسایشی و نشت یونی

هر گونه تنش محیطی زنده و یا غیرزنده که سبب تغییر در تعادل اکسیداسیون و احیاء سلول‌های گیاهی شود، به دنبال آن تجمع رادیکال‌های فعال اکسیژن از جمله پراکسید هیدروژن، پراکسیده شدن غشاء سلولی و چربی‌های آن و در نتیجه نشت یونی را به همراه دارد (Bhattacharjee and Mukherjee, 2001). بر این اساس، تولید پراکسید هیدروژن به عنوان شاخص تنش اکسایشی و درصد نشت یونی به عنوان نتیجه شدت تنش اکسایشی در پایه‌های گلابی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش تنش خشکی و شدت آن هم از نظر طول دوره تنش و هم از نظر شدت تنش کسر آبیاری، میزان تولید پراکسید هیدروژن در بافت پایه‌های مورد بررسی افزایش نشان داد (جدول ۱).

در شرایط بدون تنش، میانگین میزان پراکسید هیدروژن بین ۲۳/۷ میکرومول در گرم بافت تازه بود، و در پایه OH×F87 تا ۳۲/۵ میکرومول در گرم بافت تازه رسید (جدول ۱). با افزایش شدت تنش کسر آبیاری و مدت اعمال تنش، میزان پراکسید هیدروژن در دو پایه پیرودوارف و *P. betulifolia* Bunge به ترتیب به ۸۱/۳ و ۸۰/۳ میکرومول در گرم بافت تازه افزایش یافت (جدول ۱).

نکته حائز اهمیت در این است که بافت‌های کلیه موجودات از جمله بافت‌های گیاهی دارای مقادیری از رادیکال‌های فعال اکسیژن به عنوان تولیدات ثانویه واکنش‌های بیوشیمیائی می باشند و کلروپلاست‌ها و میتوکندری‌ها به عنوان دو منشاء اصلی آنها ایفای نقش می‌کنند (Bhattacharjee, 2011). از سوی دیگر چنانچه ذکر شد، تنش‌های زنده و غیرزنده با تغییر در این تعادل سطوح رادیکال‌های فعال اکسیژن سبب ایجاد خسارت به غشاء سلولی و ایجاد خسارت در داخل بافت‌ها می شوند. بر این اساس به نظر می‌رسد سطوح

نسبی پراکسید هیدروژن ۲۰ تا ۲۰ میکرومول در گرم بافت تازه، سطح متعادل و غیر مضر این ترکیب در بافت برگ پایه‌های گلابی محسوب می‌شود.

جدول ۱- مقایسه تولید پراکسید هیدروژن و میزان نشت یونی در بافت پایه‌های گلابی در دوره ۳۰ و ۶۰ روزه پس از اعمال تنش کسر آبیاری در دو سطح ۷۵ و ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه با تیمار بدون تنش (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه)

Table 1. Comparison of the hydrogen peroxide generation and electrolyte leakage in the tissues pear rootstocks at 30 and 60 days after application of deficient irrigation at two levels; 75% and 50% of field capacity with non-deficit irrigation treatment (100% of field capacity)

پایه Rootstock	کسر آبیاری (درصد ظرفیت مزرعه) Deficit Irrigation (FC%)	پراکسید هیدروژن (میکرومول بر گرم بافت تازه) Hydrogen Peroxide ($\mu M\ g^{-1}$ fresh weight)		درصد نشت یونی Electrolyte leakage (%)	
		30 days	60 days	30 days	60 days
	100	25.2c	32.5c	15.0c	17.9c
Pyrus betulifolia Bunge	75	30.8b	51.5b	19.2b	21.4b
	50	54.7a	80.3a	23.5a	27.8a
	100	28.0c	29.1c	16.5c	13.9c
Dargazi seedling	75	34.0b	43.4b	24.3b	23.7b
	50	49.2a	74.3a	31.3a	32.0a
	100	30.7c	30.3c	15.8c	15.4c
OH×F69 (Daynir)	75	41.8b	45.9b	23.1b	20.2b
	50	59.7a	77.5a	27.7a	27.5a
	100	31.8c	32.0c	18.0c	18.6c
Pyrodwarf	75	42.6b	51.6b	21.4b	24.7b
	50	60.1a	81.3a	27.8a	29.6a
	100	23.7c	28.6c	176c	15.8c
OH×F87 (Daytor)	75	31.4b	41.0b	25.5b	22.7b
	50	46.5a	72.4a	30.2a	30.5a

میانگین هایی، در هر ستون، که دارای حرف مشترک می باشند، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی دار ندارند.

Means, in each column, followed by similar letter are not significantly different at the 1% probability level-using Duncan’s Multiple Range Test.

با توجه به نتایج ارائه شده در شکل ۱ و نتایج ظهوری و همکاران (Zohouri *et al*., 2020)، پایه پیرودوارف با بیشترین تحمل به تنش و پایه *P. betulifolia* Bunge سطح تحمل کمتری در مقایسه با پایه پیرودوارف نشان دادند. این در حالی است که در این پژوهش هر دو پایه بالاترین سطح پراکسید هیدروژن را از خود در دوره ۶۰ روزه از تنش در شدت تنش ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه بروز دادند. این نتایج با گزارش نیو و همکاران (Niu *et al*., 2021) در رابطه با افزایش نشت یونی و پراکسید هیدروژن در گونه گلابی *P.×bretschneideri* Rehd.

مطابقت دارد.

مطالعه گسترده روی رفتار گونه فعال اکسیژن پراکسید هیدروژن نشان داد که در شرایط هر دو تنش زنده و غیر نده، این مولکول نقش دوگانه‌ای در تحمل گلابی به تنش ایفا می کند، گاهی بافت‌های گیاهی به منظور جلوگیری از آثار مخرب رادیکال سوپراکسید ($O_2^{\bullet-}$) و یا جلوگیری از تولید رادیکال بسیار مخرب هیدروکسیل ($OH^{\bullet-}$)، با تجمع پراکسید هیدروژن و سپس با فعالیت آنزیم‌های ضداکسایشی نظیر کاتالاز و انواع پراکسیدازها، پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل می‌کنند (Abdollahi *et al*., 2015; Bhattacharjee and Mukherjee; 2001; Hassani *et al*., 2016).

بررسی میزان نشت یونی به عنوان نتیجه نهائی تنش اکسایشی حاصل از کسر آبیاری در پایه‌های گلابی مورد بررسی نشان داد که به دلیل تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن به صورت محدود در شرایط بدون تنش، میزان محدودی از نشت یونی موجود بود که گیاه با فعالیت سازکارهای آنزیمی و غیرآنزیمی دفاع ضداکسایشی، تلاش می‌نماید میزان این نشت یونی را در سطح حداقلی و بدون آسیب به غشاء که بر اساس این بررسی بین ۱۵ تا ۲۰ درصد در بافت‌های پایه‌های گلابی ارزیابی بود، حفظ نماید (جدول ۱).

بر اساس این نتایج، افزایش نشت یونی به بالای ۲۰ درصد، سبب ایجاد تنش ملایم و کاهش نسبی رشد شد. میزان نشت یونی حدود ۳۰ درصد و بالاتر سبب تنش شدید و کاهش قابل توجه رشد خواهد شد (شکل ۱ و جدول ۱). اگرچه به نظر می‌رسد که بر اساس این نتایج، نشت یونی نیز به عنوان تنها شاخص نهائی مرتبط با رشد و شدت تنش ناشی از خسارت‌های تنش اکسایشی بافت مطرح نیست، عوامل ناشناخته دیگری در این بین می‌تواند با وجود سطح نسبی بالای نشت یونی، رشد بافت و پایداری سلول‌ها را در این شرایط را حفظ کند.

فعالیت آنزیم‌های ضداکسایشی

بافت‌های گیاهی به‌طور پیوسته در نتیجه فعالیت‌های حیاتی و به‌ویژه فعالیت زنجیره‌های انتقال الکترون غشائی خود با تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن و آنزیم‌های ضد اکسایشی مختلف به ویژه سه آنزیم: سوپراکسید دیسموتاز با تبدیل سوپراکسید ($O_2^{\bullet-}$) به گونه فعال کم خطر پراکسید هیدروژن، کاتالاز و انواع پراکسیدازها و با تبدیل پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن، از ایجاد رادیکال مخرب هیدروکسیل ($OH^{\bullet-}$)، در تنش‌های مختلف اعم از تنش خشکی در گیاهان و تخریب بافت‌ها تا حد امکان جلوگیری می کنند (Bhattacharjee and Mukherjee, 2001). بنابراین، در شرایط بدون تنش و یا تنش ملایم نیز سطوح پائینی از فعالیت این آنزیم‌ها در بافت پایه‌های گلابی مورد بررسی در این پژوهش مشاهده شد که اطلاعات جدول ۲ تایید کننده آن می‌باشد.

جدول ۲- مقایسه فعالیت آنزیم‌های ضداکسایشی در بافت پایه‌های گلابی طی در ۳۰ و ۶۰ روز پس از اعمال تنش کسر آبیاری در دو سطح ۷۵ و ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه با تیمار بدون تنش (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه)

Table 2. Comparison of anti-oxidative enzymes activities in tissues of pear rootstocks at 30 and 60 days after application of deficient irrigation at two levels; 75% and 50% of field capacity with non-deficit irrigation treatment (100% of field capacity)

پایه‌ها Rootstocks	کسر آبیاری Deficit Irrigation (FC%)	سوپراکسیددیسموتاز (واحد بر میلی گرم پروتئین برگ) Superoxide dismutase (units mg^{-1} leaf protein)		کاتالاز (واحد بر میلی گرم پروتئین برگ) Catalase (units mg^{-1} leaf protein)		آسکوربات پراکسیداز (میکرومول اسید آسکوربیک بر میلی گرم پروتئین برگ) Ascorbate Peroxidase (µmol $_{ASA}$ mg^{-1} leaf protein)	
		30 days	60 days	30 days	60 days	30 days	60 days
	100	149.8c	250.1c	0.17c	0.18c	1.35c	2.07c
Pyrus betulifolia Bunge.	75	264.5b	302.3b	0.26b	0.38b	2.97b	3.01b
	50	390.3a	342.0a	0.32a	0.53a	4.22a	4.60a
	100	154.0c	284.1c	0.19c	0.16c	1.22c	1.36c
Dargazi seedling	75	251.3b	319.8b	0.25b	0.31b	2.07b	2.37b
	50	384.0a	359.2a	0.31a	0.47a	3.08a	3.31a
	100	165.8c	231.8c	0.17 c	0.16c	1.50c	1.65c
OH×F69 (Daynir)	75	346.4b	279.9b	0.24b	0.30b	2.01b	2.11b
	50	404.2a	305.4a	0.31a	0.50a	4.45a	5.03a
	100	168.9c	248.8c	0.19b	0.16c	1.65c	1.56c
Pyrodwarf	75	303.0b	295.3b	0.34a	0.31b	2.57b	2.61b
	50	419.2a	339.0a	0.35	0.51a	4.84a	5.01a
	100	134.5c	215.5b	0.19c	0.16c	1.27c	1.35c
OH×F87 (Daytor)	75	264.8b	252.6a	0.26b	0.30b	2.07b	2.21b
	50	345.3a	286.3a	0.31a	0.47a	3.07a	3.20a

میانگین هایی، در هر ستون، که دارای حرف مشترک می باشند، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی دار ندارند.

Means, in each column, followed by similar letter are not significantly different at the 1% probability level-using Duncan's Multiple Range Test.

هر سه آنزیم فوق‌الذکر در شرایط بدون تنش کسر آبیاری در هر دو دوره ۳۰ و ۶۰ روزه فعالیت حداقلی خود را در بافت‌های گلابی بروز دادند که در این بین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در محدوده ۱۵۰ تا ۲۸۰ واحد به ازاء میلی گرم پروتئین برگ و فعالیت آنزیم کاتالاز، ۰/۱۶ تا ۰/۱۹ واحد به ازاء میلی گرم پروتئین برگ و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ۱/۲ تا ۲/۰ میکرومول اسید آسکوربیک به ازاء میلی گرم پروتئین برگ در دقیقه بود (جدول ۲).

براساس این ارزیابی، سطح حداقلی فعالیت سه آنزیم فوق الذکر در گونه‌ها و پایه‌های گلابی مورد ارزیابی تا حدی متفاوت بود، و در بین دو دوره ۳۰ تا ۶۰ روزه نیز تفاوت‌هائی نشان دادند. این تفاوت‌ها ناشی از واکنش بسیار سریع

ژن‌های موثر در واکنش‌های ضداکسایشی و اهمیت بسیار سریع آنها در جلوگیری از تولید، تجمع و تاثیر مخرب رادیکال‌های فعال اکسیژن در بافت‌های گیاهی به طور عموم (Bhattacharjee, 2011) و گلابی به طور خاص می‌باشد (Hassani *et al*., 2016).

نتایج نشان داد که با افزایش شدت تنش کسر آبیاری از سطح صفر به ۷۵ و سپس به ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه، میزان فعالیت آنزیم‌های ضداکسایشی مورد بررسی در همه پایه‌ها تقریباً به صورت یکنواخت و هماهنگی افزایش یافت (جدول ۲). همچنین به طور معمول با گذشت ۶۰ روزه از تنش کسرآبیاری، افزایش بیشتری را در فعالیت آنزیم‌های ضداکسایشی بافت پایه‌های گلابی به همراه داشت. میزان افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در محدوده دو برابر شدن و برای دو آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در محدوده دو تا سه برابر شدن فعالیت مشاهده شد.

نتایج به دست آمده از این پژوهش با نتایج نیو و همکاران (Niu *et al*., 2021) در رابطه با افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به منظور کاهش شدت تولید و تجمع گونه فعال پراکسید هیدروژن در گونه *P.×bretschneideri* Rehd. مطابقت دارد. این پژوهشگران نقش پروتئین گلیسین‌بتائین را به عنوان یک پروتئین کلیدی در هماهنگی و تنظیم سازکارهای تحمل به تنش به خشکی در این گونه گزارش کردند. با توجه به ارتباط شاخص‌های رشد، سطح تنش بر اساس نشت یونی و تولید گونه فعال پراکسید هیدروژن و اثر متقابل آنها با فعالیت آنزیم‌های ضداکسایشی مورد بررسی، ارتباط آنها به صورت مبسوط‌تر و به صورت کمی، بر اساس شاخص همبستگی پیرسون (Pearson correlation coefficients)، در صفحه های بعد مورد بررسی قرار گرفته است.

همبستگی آنزیم‌های ضداکسایشی با شاخص‌های تنش

در بین سازکارهای تولید گونه‌های فعال اکسیژن و تعدیل آنها از طریق فعالیت‌های آنزیمی ضداکسایشی و همچنین ترکیبات ثانویه‌ای نظیر مواد فنلی درون بافت‌های گیاهی (Bhattacharjee, 2011) ارتباط نزدیکی وجود دارد. لیکن این تغییرات همیشه در یک جهت نیست، بلکه بافت‌های گیاهی و بویژه درخت گلابی از سازکارهای متفاوت و چند جانبه برای تعدیل آثار تنش‌های زنده و غیرزنده در ارقام و پایه‌های مختلف استفاده می‌کند (Abdollahi and Salehi, 2018; Niu *et al*., 2021).

بررسی ضرایب همبستگی بین ارتفاع پایه با کلیه صفات مورد ارزیابی نشان داد که اگرچه هیچکدام از ضرایب همبستگی معنی‌دار نبودند، لیکن تقریباً تمامی شاخص‌های مورد ارزیابی مشتمل بر تولید گونه فعال پراکسید هیدروژن، نشت یونی و فعالیت آنزیم‌های مورد ارزیابی با ارتفاع نهائی پایه همبستگی منفی داشتند(جدول ۳). این بدان معنی است که پایه های با ارتفاع

کوتاه تر، تولید گونه فعال پراکسید هیدروژن و نشت یونی بیشتر، سطح فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز بالاتر را داشتند (جدول ۳).

جدول ۳- ضرایب همبستگی پیرسون بین ارتفاع پایه، صفات فیزیولوژیک و فعالیت آنزیم‌های ضداکسایشی در بافت پایه‌های در ۳۰ و ۶۰ روز پس از اعمال تنش کسر آبیاری در دو سطح ۷۵ و ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه و تیمار بدون تنش (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه)

Table 3. Pearson correlation coefficients between rootstock height, physiological characteristics and activities of antioxidative enzymes in the tissues of pear rootstocks at 30 and 60 days after deficient irrigation stress application at 75% and 50% of field capacity (FC) non-deficit irrigation treatment (100% of field capacity)

Trait	صفت		Hydrogen Peroxide		Electrolyte Leakage		Superoxide Dismutase		Catalase Activity		Ascorbate Peroxidase	
			30 days	60 days	30 days	60 days	30 days	60 days	30 days	60 days	30 days	60 days
Height	ارتفاع		-0.153	-0.153	-0.276	-0.213	-0.236	0.172	-0.263	-0.117	-0.142	-0.085
Hydrogen Peroxide	پراکسید هیدروژن	30 days		0.884**	0.734**	0.777**	0.892**	0.602**	0.740**	0.851**	0.880**	0.875**
		60 days			0.778**	0.882**	0.924**	0.705**	0.768**	0.957**	0.923**	0.916**
Electrolyte Leakage	نشت الکترولیت	30 days				0.873**	0.817**	0.531*	0.725**	0.812**	0.685**	0.660**
		60 days					0.859**	0.630**	0.767**	0.989**	0.805**	0.791**
Superoxide dismutase	سوپراکسیددیسموتاز	30 days						0.679**	0.816**	0.929**	0.880**	0.867**
		60 days							0.541*	0.704**	0.604**	0.608**
Catalase activity	فعالیت کاتالاز	30 days								0.785**	0.744**	0.723**
		60 days									0.921**	0.919**

*و **: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد.

* and **: Significant at the 5% and 1% probability levels, respectively.

ضرایب همبستگی بین سایر صفات شامل: سطح فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز، تولید گونه فعال پراکسید هیدروژن و نشت یونی همبستگی در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۳). بر این اساس، همبستگی بین تولید گونه فعال پراکسید هیدروژن و نشت یونی در سطح احتمال یک درصد (r= ۰/۷۳۴**) معنی دار بود که بیانگر تاثیر مستقیم تولید پراکسید هیدروژن بر روی افزایش نشت یونی در بافت پایه‌های گلاب بود. این یافته با با نتایج نیو و همکاران (Niu *et al.*, 2021) برای گونه گلابی *P.×bretschneideri* Rehd. مطابقت دارد.

در پاسخ به تنش‌های زنده و غیر زنده، بافت‌های گیاهی به ترتیب از تولید رادیکال سوپراکسید ($O_2^{\bullet-}$)، تبدیل این رادیکال به پراکسید هیدروژن و در نهایت ایجاد رادیکال مخرب هیدروکسیل ($OH^{\bullet-}$) در شرایط تنش شدید تبعیت می کند (Bhattacharjee, 2011). بر همین اساس ترتیب و اولویت‌بندی افزایش فعالیت آنزیمی

کاهش دهنده این رادیکال‌ها نیز تا حد زیادی تـابع سـازکارهای دفـاعی اتخـاذی بافـت و همچنـین اولویت تولید این رادیکـال‌هـا در درخـت گلابـی است (Azarabadi *et al*., 2017).

بیشـترین ضـریب همبسـتگی بـین رادیکـال پراکسید هیدروژن و فعالیت آنـزیم سوپراکسـید دیسـموتاز بـه عنـوان اولـین سـد دفـاعی آنـزیم ضداکسایشی پایه‌های گلابـی مـورد بررسـی در ۳۰ روز پس از اعمال تنش کسر ابیاری مشـاهده شد. فعالیـت آنـزیم کاتـالاز بـه عنـوان سـد دوم دفـاعی بـه منظـور کـاهش پراکسـید هیـدروژن تولیدی در ۶۰ روز پس از اعمال تـنش بیشـترین همبستگی را با رادیکال پراکسید هیدروژن نشان داد (جدول ۳).

آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیـز همبسـتگی بـالا و مثبتـی بـا پراکسـید هیـدروژن داشـت (جدول ۳)، که بیانگر این است کـه در شـرایط افزایش پراکسید هیدروژن، پایـه‌هـای گلابـی بـا افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز از تجمع بیش از حد این گونه فعال اکسیـژن و تبـدیل آن به رادیکال مخرب هیدروکسیل در طی واکـنش فنتـون (Fenton) کـه در حضـور آهـن فعـال صـورت مـی‌گیـرد (Bhattacharjee, 2011; Maleki *et al*., 2022) جلوگیری می کند. بـین فعالیت سایر آنـزیم‌هـا، همبسـتگی معنـی دار تـا بسیار معنی دار وجود داشت که بر اساس نقـش هماهنـگ آنهـا در تحمـل بـه تـنش و حـذف رادیکال‌های فعال اکسیژن، بسیار منطقی ارزیابی بود.

نتیجه‌گیری

نتـایج ایـن پـژوهش نشـان داد کـه بیشـترین تحمل بـه تـنش کسـر آبیـاری در بـین پایـه‌هـای مـورد بررسـی شـامل پایـه‌هـای بـذری درگـزی و *Pyrus betulifolia*، و پایـه‌هـای همگـروه پیرودوارف، OH×F69 و OH×F87، بر اساس رشـد مربـوط بـه پایـه پیـرودوارف بـود، کـه بـاگزارش‌هـای پیشـین ارزیـابی شـاخص‌هـای رشدی، فیزیولوژیک و فتوسنتزی این پایه‌هـا در شرایط تنش مطابقت داشت.

ارزیـــابی تولیـــد گونـــه فعـــال اکســـیژن پراکسیدهیدروژن بیـانگر وجـود سـطح حـداقل تولیـد ایـن گونـه اکسـیژن فعـال در بافـت‌هـای پایـه هـای مـورد بررسـی، بـین۲۳/۷ میکرومـول در گرم بافـت تـازه در پایـه OH×F87 تـا ۳۲/۵ میکرومـــول در گـــرم بافـــت تـــازه در پایـــه *P. betulifolia* Bunge بود. با افزایش شدت و مدت تنش، میزان تولید این گ.نه فعال اکسـیژن بـه میـزان حـداکثری ۸۱/۳ میکرومـول در گـرم بافت افزایش یافت.

ارزیابی‌ها نشان داد پراکسیدهیدروژن با نشت یـونی دارای همبســتگی معنـــی دار در ســطح احتمال یک درصد ($r= ۰/۷۳۴^{**}$) بود. همچنـین بررسی ضرایب همبستگی نشان داد کـه افـزایش فعالیت آنزیم های ضـد اکسایشـی در پاسـخ بـه افـزایش شـدت تـنش کسـر آبیـاری بـه ترتیـب سوپراکسید دیسموتاز و سپس کاتالاز در پایه‌هـا بود. نتایج نشان داد که حداقل بخشی از سازکار تحمل به تنش کسر آبیاری در بین پایه‌های مورد

بررسی ناشی از تبدیل رادیکال سوپراکسید به گونه فعال اکسیژن پراکسیدهیدروژن و سپس جلوگیری از تجمع بیش از حد پراکسید هیدروژن برای جلوگیری از تبدیل آن به رادیکال‌های مخربی نظیر هیدروکسیل بود.

سپاسگزاری

نگارندگان بدینوسیله از همکاری نهالستان کشت بافتی دانش بنیان پردیس در رابطه با تهیه پایه‌های کشت بافتی مورد نیاز در این پژوهش سپاسگزاری می کنند. همچنین نگارندگان به خاطر تامین پایه‌های بذری گونه *P. betulifolia* Bunge از سرکار خانم دکتر اعظم نیکزاد و نهالستان فلورسیلوا ایتالیانا (Florsilva Italiana Co., LTD) تشکر می کنند.

References

Abdollahi, H. 2010. Pear: Botany, cultivars and rootstocks. Iranian Agricultural Ministry Publications. Tehran, Iran. 210 pp. (in Persian).

Abdollahi, H., and Salehi, Z. 2018. Histology of oxidative stress and generation of reactive oxygen species against progress of fire blight causal agent in pear cultivars. Seed and Plant Production Journal 33: 139-162 (in Persian).

Abdollahi, H., Ghahremani, Z., and Erfani Nia, K. 2015. Role of electron transport chain of chloroplasts in oxidative burst of interaction between *Erwinia amylovora* and host cells. Photosynthesis Research 124: 231-242.

Abdollahi, H., Ghasemi, A., and Mehrabi Pour, S. 2008. Evaluation of fire blight resistance in some quince (*Cydonia oblonga* Mill.) genotypes. II. Resistance of genotypes to the disease. Seed and Plant 24: 529-541 (in Persian).

Abdollahi, H., Muleo, R., and Rugini, E. 2005. Study of basal growth media, growth regulators and pectin effects on micropropagation of pear (*Pyrus communis* L.) cultivars. Seed and Plant Journal 21: 373-384 (in Persian).

Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. Methods in Enzymology 105: 121-126.

Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S., and Karanov, E. 2001. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. Plant, Cell and Environment 24: 1337- 1344.

Alscher, R. G., Erturk, N., and Heath, L. S. 2002. Role of superoxide dismutases in controlling oxidative stress in plants. Journal of Experimental Botany 53: 1331-1341.

Azarabadi, S., Abdollahi, H., Torabi, M., Salehi, Z., and Nasiri, J. 2017. ROS generation, oxidative burst and dynamic expression profiles of ROS-scavenging

enzymes of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX) in response to *Erwinia amylovora* in pear (*Pyrus communis* L). European Journal of Plant Pathology 147: 279-294.

Beauchamp, C., and Fridovich, I. 1971. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Analytical Biochemistry 44: 276-287.

Bell, R. L. 1991. Pears (*Pyrus*). Acta Horticulturae 290: 657-700.

Bhattacharjee, S. 2011. Sites of generation and physicochemical basis of formation of reactive oxygen species in plant cell. pp. 1-30. In: Dutta Gupta, S. (ed.) Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Higher Plants. CRC Press. Boca Raton, FL.

Bhattacharjee, S., and Mukherjee. A. K. 2001. Abiotic stress induced membrane damage in plants: A free radical phenomenon. pp. 16–36. In: Pandey, S. K. (ed.) Advances of stress physiology of plants. Scientific Publisher, India.

Esmaeili, A., Abdollahi, H., Bazgir, M., and Abdossi, V. 2019. Effect of lime concentration on pear's rootstock/scion combinations. Horticultural Science 46: 123-131.

FAO. 2018. World food and agriculture-statistical yearbook. Food and Agriculture Organization Publication. Rome, Italy. 254 pp.

Hassani, M., Salami, S. A., Nasiri, J., Abdollahi, H., and Ghahremani, Z. 2016. Phylogenetic analysis of PR genes in some pome fruit species with the emphasis on transcriptional analysis and ROS response under *Erwinia amylovora* inoculation in apple. Genetica 144: 9-22.

Henzler, T., and Steudle, E., 2004, Oxidative gating of water channels (aquaporins) in Chara by hydroxyl radicals. Plant Cell and Environment 27: 1184-1195.

Herzog, V., and Fahimi, H. D. 1973. A new sensitive colorimetric assay for peroxidase using 3, 3'-diaminobenzidine as hydrogen donor. Analytical Biochemistry 55: 554-62.

Li, K. Q., Xu, Z. Y., and Huang, X. S. 2016. Identification of differentially expressed genes related to dehydration resistance in a highly drought-tolerant pear, *Pyrus betulaefolia*, as through RNA-Seq. PLOS One 11 (2): e0149352. DOI: 10.1371/journal.pone.0149352.

Lombard, P. B., Westwood, M. N. 1987. Pear rootstocks. pp. 145-183. In: Rom R. C., and Carlson, R. F. (eds.) Rootstocks for fruit crops. Wiley. New York.

Maleki Asayesh, Z., Arzani, K., Mokhtassi-Bidgoli, A., and Abdollahi, H. 2022. Physiological and gas exchange response of Dargazi seedling and Pyrodwarf clonal pear (*Pyrus communis*) rootstocks to drought stress. (Under review-unpublished data).

Maleki, R., Abdollahi, H., and Piri, S. 2022. Variation of active iron and ferritin content in pear cultivars with different levels of pathogen resistance following inoculation with *Erwinia amylovora*. Journal of Plant Pathology 104: 281-293**.**

Mansouryar, M., Erfani-Moghadam, J., Abdollahi, H., and Salami, S. A. 2016. Optimization of *in vitro* micropropagation protocol for some vigorous rootstocks of pear. Iranian Journal of Horticultural Science 47: 361-370 (in Persian).

Nakano, Y., and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant and Cell Physiology 22: 867-880.

Niu, T., Zhang, T., Qiao, Y., Wen, P., Zhai, G., Liu, E., Al-Bakre, D. A., Al-Harbi, M. S., Gao, X., and Yang, X. 2021. Glycinebetaine mitigates drought stress-induced oxidative damage in pears. PLoS One. 16: e0251389. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0251389 pmid: 34793480.

Tamura, F. 2012. Recent advances in research on Japanese pear rootstocks. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science 81: 1-10.

Tukey, H. B. 1964. Dwarfed fruit trees. Cornell University Press. Ithaca, USA. 562 pp.

Wang, H., Wang, Z., Zhang, M., Jia, B., Heng, W., Ye, Z., Zhu, L., and Xu, X. 2018. Transcriptome sequencing analysis of two different genotypes of Asian pear reveals potential drought stress genes. Tree Genetics and Genomes 14: 1-15.

Westwood, M. N. 1993. Temperate zone pomology: Physiology and culture. Timber Press. Portland, Oregon. 523 pp.

Zohouri, M., Abdollahi, H., Arji, I., and Abdossi, V. 2020. Variations in growth and photosynthetic parameters of some clonal semi-dwarfing and vigorous seedling pear (*Pyrus* spp.) rootstocks in response to deficit irrigation. Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus 19 (2): 105-121.